

(19) Japan Patent Office

(12) Publication of Unexamined Patent Application

(11) Unexamined Application Publication No.:	59-73574	
(43) Unexamined Application Publication Date:	April 25, 1984	
Request for Examination:	Not yet made	
Number of Inventions:	1	
Total Pages:	10	
(51) Int. Cl. ³	Identification Code	Internal File No.
C 07 D 241/08		6970-4C
403/06		7431-4C
// A 61 K 31/495	AAH	7169-4C
(C 07 D 403/06		
241/00		6970-4C
209/00)		7132-4C

(54) Cyclic dipeptide

(21) Patent Application No.: 57-183654

(22) Patent Application Date: October 21, 1982

(72) Inventor: Kenji Suzuki
3-4-194 Takamori, Izumi-shi

“ Yusuke Sasaki
5-3-22 Dainohara, Sendai-shi

“ Kensuke Kizara
23-35 Takimichi, Sendai-shi

“ Shinobu Sakurada
3-4-12 Chomeigaoka, Izumi-shi

“ Yasuyuki Akutsu
7-38-10 Minami Kodai, Izumi-shi

“ Michiko Matsi
1-6-9 Asahigaoka, Sendai-shi

“ Takumi Sato
2-17-10 Tsunogoro-cho, Sendai-shi

(71) Applicant: Grelan Pharmaceutical Co., Ltd.
3-3-9 Nozawa, Setagaya-ku, Tokyo

(74) Agent: Mineyoshi Hiiragi

Specifications

1. Title of Invention:

Cyclic dipeptide

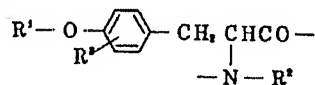
2. Claims:

A cyclic dipeptide which is shown by the general formula

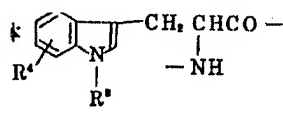
cyclo (-X-Y-)

(I)

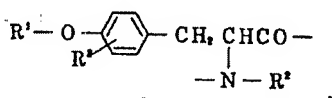
(wherein X is an amino acid which belongs to the aliphatic monoaminomonocarboxylic acids, tyrosine, a tyrosine derivative which is shown by the formula



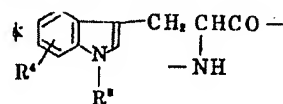
or a tryptophan derivative which is shown by the formula



Y is an amino acid which belongs to the diaminomonocarboxylic acids, provided that when X is tyrosine, Y is not arginine or lysine; when X is shown by the formula



R^1 is a hydrogen atom or a lower alkyl group, R^2 is a hydrogen atom or lower alkenyl group, and R^3 is a hydrogen atom or a halogen atom; when X is shown by the formula



R^4 is a hydrogen atom or hydroxyl group and R^5 is a hydrogen atom or formyl group; and when both R^4 and R^5 are hydrogen atoms, Y is not arginine).

3. Detailed Explanation of Invention:

This invention concerns a cyclic dipeptide which has an analgesic activity.

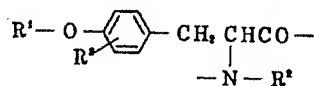
The dipeptide tyrosyl-arginine are known to have stronger analgesic activities than encephalins, and cyclo(tyrosyl-arginine), which is a cyclized form of it, has already been discovered by the inventors to have an even stronger analgesic activity than it. In this invention, the inventors discovered cyclic dipeptides which have even stronger analgesic activities than cyclo(tyrosyl-arginine), and perfected this invention. Therefore, the purpose of this invention is to provide a cyclic dipeptide of this kind.

The compound of this invention is a cyclic dipeptide which is shown by the general formula

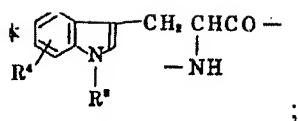
cyclo (-X-Y-)

(I)

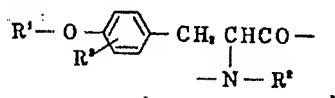
(wherein X is an amino acid which belongs to the aliphatic monoaminomonocarboxylic acids, tyrosine, a tyrosine derivative which is shown by the formula



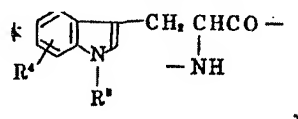
or a tryptophan derivative which is shown by the formula



Y is an amino acid which belongs to the diaminomono-carboxylic acids, provided that when X is tyrosine, Y is not arginine or lysine; when X is shown by the formula



R¹ is a hydrogen atom or a lower alkyl group, R² is a hydrogen atom or lower alkenyl group, and R³ is a hydrogen atom or a halogen atom; when X is shown by the formula



R⁴ is a hydrogen atom or hydroxyl group and R⁵ is a hydrogen atom or formyl group; and when both R⁴ and R⁵ are hydrogen atoms, Y is not arginine).

The lower alkyl group shown by R¹ above may be a C₁–C₆ [*subscript hard to read*] linear or branched alkyl group, such as a methyl or ethyl group, an n- or isobutyl, n-, iso-, sec-, or tert-butyl group, or a pentyl or hexyl group. The lower alkenyl group shown by R² may be a C₂–C₆ [*subscript hard to read*] alkenyl group, such as a vinyl, allyl, butenyl, methylbutenyl, etc., group. The halogen group shown by R³ is fluorine, chlorine, bromine, and iodine.

Specific examples of the amino groups X belonging to aliphatic monoaminomonocarboxylic acids are glycine (Gly), alanine (Alanine), *b*-alanine (*b*-Alanine), valine (Val), leucine (Leu), isoleucine (Ileu), serine (Ser), threonine (Thr), *b*-cyclohexylalanine (Cha), etc. Specific examples of the tyrosine derivatives X are lower alkyloxytyrosines, such as O-methyltyrosine [Tyr(Me)], O-ethyltyrosine [Tyr(Et)], 3,5-dibromotyrosine [Tyr(3,5 di Br)], N-allyltyrosine (Al Tyr), O-n-propyltyrosine [Tyr(n-Pr)], O-isopropyltyrosine [Tyr(iso-Pr)], O-n-butyltyrosine [Tyr(n-Bu)], O-tert-butyltyrosine [Tyr(tert-B)], etc. Specific examples of tryptophan derivatives X are tryptophan (Trp), Nⁱ-formyltryptophan [Trp(CHO)] (where Nⁱ is an indole nitrogen atom), 5-hydroxytryptophan (5 HTP), 5-hydroxy-Nⁱ-formyltryptophan [5 HTP(CHO)], etc.

Specific examples of the amino acids Y belonging to diaminomono-carboxylic acids are arginine (Arg), lysine (Lys), homoarginine (Har), N⁷,N⁸-(1,2-dihydroxycyclohexy-1,2-lene)arginine [Arg(DHCH)], P-guanidinophenylalanine (Gph), 2-amino-4-guanidinobuteric acid (Gbu), *a,g*-diaminobuteric acid (Dab), ornithine (Orn), etc.

Therefore, the compound of this invention is a cyclic dipeptide having the aforementioned amino acids as component units, and includes cyclic dipeptides shown by general formula (I) above in which any of these two kinds of amino acids which are cyclized by peptide bonds (such peptides are also called "diketopiperazines").

The component amino acids of the cyclic dipeptides (I) of this invention are natural or non-natural amino acids; if these amino acids have irregular carbon atoms in their molecules, they may exist stereochemically as D, L, or DL (racemic) compounds. Ordinarily, however, it is desirable for them to be L compounds or combinations of L compounds or D compounds or

combinations of D compounds.

Depending on the purification conditions or the particular compounds that are desired, the compounds of this invention may exist as salts with acids (salts with organic acids, such as acetates, lactates, butyrates, salicylates, benzoates, methanesulfonates, etc.; salts with inorganic acids, such as hydrochlorides, hydrobromides, phosphates, sulfates, etc.) or salts with bases (salts with alkali metals, such as potassium, sodium, etc.). These salts are also included in this invention.

In these Specifications, the amino acids, peptides, compound residual groups, protective groups, reagent solvents, etc., may be indicated by symbols which are customarily used in the relevant fields. Examples of these are the following.

Boc = tert-butoxycarbonyl

Z = benzyloxycarbonyl

Me = methyl

Et = ethyl

n-Pr = n-propyl

iso-Pr = isopropyl

n-Bu = n-butyl

tert-Bu = tertiary butyl

Bzl = benzyl

Tfa = trifluoroacetyl

Cha = *b*-cyclohexylalanine

5HTP = 5-hydroxytryptophan

Har = homoarginine

Gph = p-guanidinophenylalanine

Gbu = 2-amino-4-guanidinobutyric acid

Dab = *α,g*-diaminobutyric acid

Phe(NO₂) = P-nitrophenylalanine

Phe(NH₂) = P-aminophenylalanine

Tyr(3,5-di Br) = 3,5-dibromotyrosine

Trp(CHO) = Nⁱ-formyltryptophan

Arg(CHCH) = N⁷,N⁸-(1,2-dihydroxycyclohexy-1,2-lene)arginine

AlTyr = N-allyltyrosine

DCC = dicyclohexylcarbodiimide

WSCI = 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride

HOBt = 1-hydroxybenztriazole

HONB = N-hydroxy-5-norbornene-2,3-dicarboximide

DMF = dimethylformamide

DMSO = dimethylsulfoxide

THF = tetrahydrofuran

TLC = thin-layer chromatography

Boc-ON = 2-tert-butoxycarbonyloxyimino-2-phenylacetonitrile

In these Specifications, furthermore, specific examples of the compounds of this invention included in general formula (I) are indicated by appending "cyclo" or the abbreviation "C.," indicating that the chain dipeptides are cyclized by peptide bonds, as they are commonly used in the relevant fields in place of these chemical names. Specific examples of the cyclic dipeptides of this invention are shown below according to this way of designating them.

- | | |
|--------------------------------|--|
| (1) cyclo(-Cha-Arg-) | (2) cyclo(-Leu-Arg-) |
| (3) cyclo(-Val-Arg-) | (4) cyclo(-Ser-Arg-) |
| (5) cyclo(-Ala-Arg-) | (6) cyclo(5HTP-Arg-) |
| (7) cyclo[-Tyr(Me)-Arg-] | (8) cyclo[-Tyr(Et)-Arg-] |
| (9) cyclo[-Tyr(3,5-diBr)-Arg-] | (10) cyclo[-Try[<i>sic</i>](CHO)-Arg-] |
| (11) cyclo(-AlTyr-Arg-) | (12) cyclo(-Tyr-Har-) |
| (13) cyclo(-Tyr-Gph-) | (14) cyclo(-Tyr-Gbu-) |
| (15) cyclo(-Tyr-Orn-) | (16) cyclo(-Tyr-Dab-) |
| (17) cyclo[-Tyr-Arg(DHCH)-] | (18) cyclo(-5HTP-Har-) |
| (19) cyclo[-Tyr(Et)-Har-] | (20) cyclo[-Trp(CHO)-Har-] |
| (21) cyclo[-Tyr(n-Pr)-Har-] | (22) cyclo[-Tyr(iso-Pr)-Har-] |
| (23) cyclo[-Tyr(n-Bu)-Har-] | (24) cyclo[-Tyr(tert-Bu)-Har-] |

These compounds may be produced by first synthesizing a chain dipeptide by concentrating the amino acid constituting the target compound (I), or by intramolecular concentration. This peptide concentration means may be any desired publicly known method; for example, one can use the method described in Nobuo Izumiya, et al.: *Pepuchido gousei* [*Peptide Synthesis*] (Maruzen Co., 1975); the method described in Bodanski¹ and Ondech¹, *Pepuchido Shinseshisu* [*Peptide Synthesis*] (Interscience Co., 1966); or the method described by the inventors in Japan Publication of Unexamined Patent Application No. 56-2969. For example, one can employ methods such as the DCC method, the active ester method, the (mixed) acid anhydride method, the azide method, the chloride method, the method using a Woodward's reagent, the carbodiimidazole method, the DCC/HONB (or HOBt), NCA method, the WSCI method, etc.

¹ Transliteration of Japanese transliteration – spelling may be incorrect. – Translator's note

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—73574

⑤Int. Cl.³
C 07 D 241/08
403/06
// A 61 K 31/495
(C 07 D 403/06
241/00
209/00)

識別記号
A A H

庁内整理番号
6970—4C
7431—4C
7169—4C
6970—4C
7132—4C

⑬公開 昭和59年(1984)4月25日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全10頁)

⑭環状ジペプチド類

①特 願 昭57—183654
②出 願 昭57(1982)10月21日
⑦発 明 者 鈴木謙次
泉市高森3丁目4番194号
⑦発 明 者 佐々木有亮
仙台市台原5丁目3番22号
⑦発 明 者 木皿憲佐
仙台市滝道23番地35号
⑦発 明 者 桜田忍

⑦発 明 者 泉市長命ヶ丘3丁目4番12号
阿久津保之
⑦発 明 者 泉市南光台7丁目38番10号
松井道子
⑦発 明 者 仙台市旭ヶ丘1丁目6番9号
佐藤卓美
⑦出 願 人 仙台市角五郎町2丁目17番10号
グレラン製薬株式会社
東京都世田谷区野沢3丁目3番
9号
⑦代 理 人 柊木峯治

明 細 書

1. 発明の名称

環状ジペプチド類

2. 特許請求の範囲

一般式(I)

サイクロ (—X—Y—) (I)

(式中、Xは脂肪族モノアミノモノカルボン酸に
属するアミノ酸、チロシン、

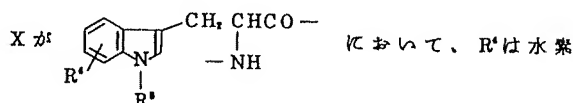
チロシン誘導体 $R^1-O-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}-R^2)-\text{CO}-$ 、また

はトリプトファン誘導体 $R^1-O-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}-R^2)-\text{CO}-$

を示し、Yはジアミノモノカルボン酸に属するア
ミノ酸を示す。ただし、Xがチロシンの時、Yは
アルギニンまたはリジンでない。Xが

$R^1-O-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}-R^2)-\text{CO}-$ において、 R^1 は低級ア
ルキル基、 R^2 は水素原子または低級アルケニル基、
および R^3 は水素原子またはハロゲン原子を示す。

(1)



原子または水酸基を、 R^2 は水素原子またはホルミ
ル基を示し、 R^3 および R^4 が両方とも水素原子であ
る時、Yはアルギニンでない。) で表わされる環
状ジペプチド類。

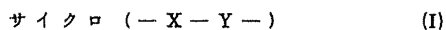
3. 発明の詳細な説明

本発明は鎮痛作用を有する環状ジペプチドに関
する。

ジペプチドのチロシル—アルギニンはエンケフ
アリンより強い鎮痛作用を有することは公知であ
り、これを環状化したサイクロ (チロシル—アル
ギニン) はこれよりもさらに強力な鎮痛作用を有
することは本発明者らがすでに見出した。今回、
本発明者らはサイクロ (チロシル—アルギニン)
よりも、一層強力な鎮痛作用を有する環状ジペ
チド類を見出し、本発明を完成させた。従って、
本発明の目的はこの様な環状ジペプチドを提供す
ることにある。

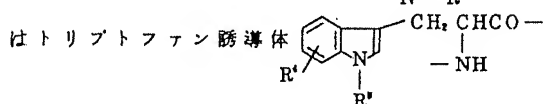
(2)

本発明の化合物は一般式(I)



(式中、Xは脂肪族モノアミノカルボン酸に属するアミノ酸、チロシン、

チロシン誘導体 $R^1-O-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CO}-)-\text{N}-R^2$ 、また



を示し、Yはジアミノモノカルボン酸に属するアミノ酸を示す。ただし、Xがチロシンの時、Yはアルギニンまたはリジンでない。

Xが $R^1-O-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CO}-)-\text{N}-R^2$ において、 R^1 は低

級アルキル基、 R^2 は水素原子または低級アルケニル基、および R^3 は水素原子またはハロゲン原子を示す。Xが $\text{R}^3-\text{C}_8\text{H}_6\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CO}-)-\text{NH}-\text{R}^2$ において、 R^3

は水素原子または水酸基を、 R^2 は水素原子またはホルミル基を示し、 R^1 および R^3 が両方とも水素原

(3)

(Tyr(3,5 di Br)), N-アリルチロシン(Al Tyr), O-n-プロピルチロシン(Tyr(n-Pr)), O-iso-プロピルチロシン(Tyr(iso-Pr)), O-n-ブチルチロシン(Tyr(n-Bu)), O-tert-ブチルチロシン(Tyr(tert-Bu))等の低級アルキルオキシチロシンが挙げられ、Xのトリプトファン誘導体の具体的な例として、トリプトファン(Trp), N^1 -ホルミルトリプトファン(Trp(CHO))(N^1 はインドール環の窒素原子を表わす), 5-ハイドロオキシトリプトファン(5 HTP), 5-ハイドロオキシ N^1 -ホルミルトリプトファン(5 HTP(CHO))等が挙げられる。

Yのジアミノモノカルボン酸に属するアミノ酸の具体的な例として、アルギニン(Arg), リジン(Lys), ホモアルギニン(Har), N^7 , N^7 -1,2-ジハイドロキシサイクロヘキシー-1,2-レン)アルギニン(Arg(DHCH)), P-グアニジノフェニルアラニン(Gph), 2-アミノ-4-グアニジノ酪酸(Gbu), α , γ -ジアミノ酪酸(Dab), オルニチン(Orn)等が挙げられる。

(5)

子である時、Yはアルギニンでない。)で表わされる環状ジペプチド類である。

上記の R^1 で示される低級アルキル基としてメチル, エチル, nまたはiso-プロピル, n, iso, secまたはtert-ブチル, ペンチル, ヘキシルなどの $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ の直鎖または分枝したアルキル基が挙げられ、 R^2 で示される低級アルケニル基としてビニル, アリル, プテニル, メチルプテニルなどの $\text{C}_2\sim\text{C}_8$ のアルケニル基が挙げられ、 R^3 で示されるハロゲン原子として、フッ素, 塩素, 臭素およびヨウ素原子が挙げられる。

Xの脂肪族モノアミノモノカルボン酸に属するアミノ酸の具体的な例として、グリシン(Gly), アラニン(Ala), β -アラニン(β -Ala), バリン(Val), ロイシン(Leu), イソロイシン(Ileu), セリン(Ser), スレオニン(Thr), β -サイクロヘキシルアラニン(Cha)等が挙げられ、Xのチロシン誘導体の具体的な例として、O-メチルチロシン(Tyr(Me)), O-エチルチロシン(Tyr(Et)), 3,5-ジプロモチロシン

(4)

従って、本発明の化合物は上記アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド類であり、これら任意のアミノ酸2種を互いにペプチド結合により環状化した上記一般式(I)で示される環状ジペプチド類(この様なペプチド類は別名ジケトピペラジンと称される。)が含まれる。

本発明の環状ジペプチド類(I)の構成アミノ酸は天然あるいは非天然のアミノ酸であり、これらのアミノ酸において分子内に不整炭素原子を有する場合、その光学異性に関してD, LまたはDL体(ラセミ型)として存在し得るが、通常はL体とL体の組み合わせまたはD体とD体の組み合わせであることが好ましい。

本発明の化合物は精製条件あるいは所望により酸との塩(酢酸, 乳酸, 酒石酸, サリチル酸, 安息香酸, メタンスルホン酸などの有機酸との塩; 塩酸, 臭化水素酸, リン酸, 硫酸などの無機酸との塩など)あるいは塩基との塩(カリウム, ナトリウムなどのアルカリ金属との塩など)として存在することもあるが、これらの塩も本発明に包含さ

(6)

れる。

本明細書においてアミノ酸、ペプチド、化合物の残基、保護基、試薬溶媒等を当該分野における慣用略記号で表示する場合がある。その例を次に示す。

Boc = tert-ブトキシカルボニル

Z = ベンジルオキシカルボニル

Me = メチル

Et = エチル

n-Pr = n-プロピル

iso-Pr = イソプロピル

n-Bu = n-ブチル

tert-Bu = 第3級ブチル

Bzl = ベンジル

Tfa = トリフルオロアセチル

Cha = β -サイクロヘキシルアラニン

5HTP = 5-ハイドロオキシトリプトファン

Har = ホモアルギニン

Gph = p-グアニジノフェニルアラニン

Gbu = 2-アミノ-4-グアニジノ酪酸

(7)

シイミノ-2-フェニルアセトニトリル

さらに本明細書では、一般式(I)に包含される本発明の具体的な化合物を表示する場合、その化学名に代えて当該分野でよく用いられている様に、鎖状ジペプチドがペプチド結合によって環状化していることを示す“cyclo”(サイクロ)あるいは“C.”なる接頭辞を付して表示することがある。この様な表示法によって本発明の環状ジペプチド類の具体例を下記に挙げる。

- | | |
|-------------------------------|----------------------|
| (1)cyclo(-Cha-Arg-) | (2)cyclo(-Leu-Arg-) |
| (3)cyclo(-Val-Arg-) | (4)cyclo(-Ser-Arg-) |
| (5)cyclo(-Ala-Arg-) | (6)cyclo(5HTP-Arg-) |
| (7)cyclo(-Tyr(Me)-Arg-) | |
| (8)cyclo(-Tyr(Et)-Arg-) | |
| (9)cyclo(-Tyr(3,5-diBr)-Arg-) | |
| (10)cyclo(-Try(CHO)-Arg-) | |
| (11)cyclo(-AlTyr-Arg-) | (12)cyclo(-Tyr-Har-) |
| (13)cyclo(-Tyr-Gph-) | (14)cyclo(-Tyr-Gbu-) |
| (15)cyclo(-Tyr-Orn-) | (16)cyclo(-Tyr-Dab-) |
| (17)cyclo(-Tyr-Arg(DHCH)-) | |

(9)

Dab = α, γ -ジアミノ酪酸

Phe(NO₂) = p-ニトロフェニルアラニン

Phe(NH₂) = p-アミノフェニルアラニン

Tyr(3,5-diBr) = 3,5-ジブロモチロシン

Trp(CHO) = N¹-ホルミルトリプトファン

Arg(DHCH) = N⁷, N⁹- (1,2-ジヒドロオキシサイクロヘキシ-1,2-レン) アルギニン

AlTyr = N-アリルチロシン

DCC = ジサイクロヘキシルカルボジイミド

WSCI = 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩

HOBT = 1-ハイドロオキシベンゾトリアゾール

HONB = N-ハイドロオキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボキシミド

DMF = ジメチルホルムアミド

DMSO = ジメチルスルホキシド

THF = テトラヒドロフラン

TLC = 薄層クロマトグラフィ

Boc-ON = 2-tert-ブトキシカルボニルオキ

(8)

(18)cyclo(-5HTP-Har-)

(19)cyclo(-Tyr(Et)-Har-)

(20)cyclo(-Trp(CHO)-Har-)

(21)cyclo(-Tyr(n-Pr)-Har-)

(22)cyclo(-Tyr(iso-Pr)-Har-)

(23)cyclo(-Tyr(n-Bu)-Har-)

(24)cyclo(-Tyr(tert-Bu)-Har-)

本発明の化合物を製造するには、先ず、目的化合物(I)を構成するアミノ酸を縮合させ鎖状ジペプチドを合成し、次いでこれを分子内縮合することにより行なうのがよい。該ペプチド合成手段は、任意の公知の方法に従ってもよく、例えば、泉屋信夫他著「ペプチド合成」丸善(株)、1975年; ボダスキー及びオンデチ著、「ペプチド・シンセシス」インターサイエンス刊、1966年; 本発明者ら、特開昭56-2969号公報などに記載された方法、例えばDCC法、活性エステル法、(混合)酸無水物法、アジド法、クロライド法、ウッドワード試薬を用いる方法、カルボジイミダゾール法、DCC/HONB(またはHOBT)、NCA法、WSCI法

(10)

などを適用してもよい。

本縮合反応は通常用いられる溶媒中に行なうことができ、かかる溶媒としてジクロルメタン、テトラヒドロフラン、DMF、DMSO、ピリジン、クロロホルム、ジオキサン、酢酸エチルなどが使用される。反応は一般に -20°C ～ $+80^{\circ}\text{C}$ 程度の温度で行なわれる。具体的には、殊に鎖状ペプチドの環状化にあたっては一般に酢酸触媒法〔鈴木他、Chem.Pharm.Bull. (ケミカル・アンド・ファーマシューティカル・ブレティン)、第29巻、233頁(1981年)]を採用するのが好ましい。

上記縮合反応を行なう前に、それ自体公知の手段により、原料の反応に関与しない水酸基、アミノ基、グアニジノ基などの官能基を保護したり、また反応に関与するカルボキシル基やアミノ基を活性化したり、さらに縮合反応の前あるいは後に必要に応じて保護基の脱離を行なってもよい。従って、本発明の化合物を得るための代表的な工程としては、①2種のアミノ酸を保護する；②(活性化した)保護アミノ酸を縮合させ、鎖状ペプチ

(11)

Tyr (アルキル) - OH は H-Tyr-OH に 10 % 水酸化ナトリウム液存在下 DMSO 中でアルキルハライドと反応させて得られる H-Tyr (アルキル) - OH を Boc 化して合成される。また X が N-アルケニルチロシンの場合の中間体、Boc-(アルケニル) Tyr - OH は $\text{N}^{\alpha}\text{-Tfa-Tyr (Bzl) - O Bzl}$ をハロゲン化アルケニルと水酸化カリウム末により、アルケニル化し、続いて 6 N-塩酸で加水分解し $\text{H-(アルケニル) Tyr - OH}$ となし、次に Boc 化して得られる。Y が Gph の場合の中間体 Boc - Gph - O Et は Boc - Phe (NO_2) - OH をエチルブROMアイドとフッ化カリウムにより Boc - Phe (NO_2) - O Et とし、次に還元して Boc - Phe (NH_2) - O Et とし、つづいて 1-アミジノ-3,5-ジメチルピラツォールでグアニジノ化して得られる。

以上のようにして得られた保護アミノ酸は次に鎖状ジペプチドに誘導される。本工程は、一般に目的の Boc-ジペプチド-メチル (エチル又はベンジル) エステルは DCC 法又は WSCI 法 (HOBt

(13)

ドを得る；③(脱保護および/または活性化した)鎖状ペプチドを環状化する；④脱保護によって目的物を得るという一連の工程が挙げられる。

かくして生成する環状ジペプチド類は自体公知の分離・精製手段(例、抽出、分配、再沈澱、カラムクロマトグラフィー)によって反応液から単離することができる。

以下に本発明の化合物(I)の合成法についてより具体的に説明する。先ず、保護されたアミノ酸の合成法を記す。例えば、Tyr と Ser の水酸基は Bzl により、Orn, Dab の N^{ω} -アミノ基は Z により、また Arg, Har および Gph のグアニジノ基は塩酸塩として、保護して反応させる。環状ジペプチドの一方のアミノ酸が O-アルキルチロシンの場合、中間体の Boc - Tyr (Me) - OH および Boc - Tyr (Et) - OH は N^{α} -アセチル - Tyr - OH をジメチル硫酸又はジエチル硫酸でメチル化またはエチル化することにより得られる。これらを Boc 化することにより上記の中間体得られる。エチル基より炭素数の多いアルキル基の有する Boc -

(12)

又は HONB 存在下)により行われる。すなわち、Boc - Tyr (Et) - OH と H-Arg (HCl) - OMe 又は H-Har (HCl) - OMe の縮合で Boc - Tyr (Et) - Arg - OMe 又は Boc - Tyr (Et) - Har - OMe が得られる。Boc - (アルケニル) Tyr - OH と H-Arg (HCl) - OMe 又は H-Har (HCl) - OMe との縮合で、それぞれ Boc - (アルケニル) Tyr - Arg - OMe 又は Boc - (アルケニル) Tyr - Har - OMe が得られる。Boc - Gph - O Et の Boc を 4 N 塩酸ジオキサンで脱離した後、Boc - Tyr (Bzl) - OH と縮合することにより、Boc - Tyr (Bzl) - Gph - O Et が得られる。Boc - Tyr (アルキル) - OH と H-Arg (HCl) - OMe 又は H-Har (HCl) - OMe との縮合により、Boc - Tyr (アルキル) - Arg - OMe 又は Boc (アルキル) - Har - OMe が得られる。Z - Tyr (tert - Bu) - Har - OMe は Z - Tyr (tert - Bu) - OH と H-Har (HCl) - OMe から得られ、環状化のためには Z を還元して除く。

上記で得た鎖状ペプチドの環状化にあたっては、

(14)

一般に酢酸触媒法（鈴木他，Chem.Pharm.Bull.（ケミカル・アンド・ファーマシューティカル・プレティン），29巻，233頁（1981年））を採用するのが好ましい。

本発明の環状ジペプチド類は強い鎮痛作用を示し鎮痛剤として有用である。臨床上使用するには種々の投与法が可能であるが、例えば脳脊髄液の入っているクモ膜下腔に注射することにより、手術後の痛み、癌性疼痛、分娩時の痛み等にすぐれた鎮痛効果を発揮することができる。鎮痛作用は雄性 ddY マウス（20—24 g）の加圧法で測定した。試験薬物をリンゲル液に溶解し、無麻酔マウスの脳内にマウス当り 20 μ l を注射した。マウス尾根部に加圧し、40—60 mmHg で逃避反応を示したマウスのみを選んで行った。各群 10 匹のマウスを用い逃避反応閾値が試験薬物投与により 60—80 mmHg 以上増加したものを陽性とした。加圧は注射後 5，15，30，45 および 60 分に行った。メチオニンエンケファリンのみは 2，5 および 10 分に行った。試験の結果の ED₅₀ は表 I に示した。

(15)

表 I マウス脳内投与による環状ジペプチド類の鎮痛活性

環状ジペプチド類 (化合物番号)	ED ₅₀ 値 (n·mol e/マウス) a)	活性比 b)
C. (-Tyr-Arg-)	33.0 (26.9-40.4)	1
Met-enkephalin	170.0 (146.6-197.2)	0.19
C. (-Cha-Arg-) (1)	37.8 (24.4-58.6)	0.87
C. (-Leu-Arg-) (2)	62.0 (54.4-70.7)	0.53
C. (-Val-Arg-) (3)	46.0 (35.1-60.3)	0.72
C. (-Ser-Arg-) (4)	72.0 (51.8-100.0)	0.46
C. (-Ala-Arg-) (5)	46.0 (36.5-58.0)	0.72
C. (-5HTP-Arg-) (6)	11.3 (8.3-15.1)	2.92
C. (-Tyr (Me)-Arg-) (7)	18.5 (12.5-27.4)	1.78
C. (-Tyr (Et)-Arg-) (8)	3.2 (2.0-5.1)	10.31
C. (-Tyr (3,5-diBr)-Arg-) (9)	12.0 (9.8-14.8)	2.75
C. (-Trp (CHO)-Arg-) (10)	8.2 (6.7-10.0)	4.02
C. (-AlTyr-Arg-) (11)	24.5 (14.0-42.8)	1.35
C. (-Tyr-Har-) (12)	13.2 (11.0-15.8)	2.50
C. (-Tyr-Gph-) (13)	17.0 (14.0-20.6)	1.94
C. (-Tyr-Gbu-) (14)	23.8 (17.9-31.5)	1.39
C. (-Tyr-Orn-) (15)	180.0 (121.6-266.4)	0.18
C. (-Tyr-Dab-) (16)	550.0 (443.5-682.0)	0.06
C. (-Tyr-Arg (DHCH)-) (17)	40.4 (31.3-52.1)	0.82
C. (-5HTP-Har-) (18)	13.8 (11.9-16.0)	2.39
C. (-Tyr (Et)-Har-) (19)	1.9 (1.1-3.2)	17.37
C. (-Trp (CHO)-Har-) (20)	6.2 (4.4-8.7)	5.32
C. (-Tyr (n-Pr)-Har-) (21)	2.9 (2.1-4.1)	11.38
C. (-Tyr (iso-Pr)-Har-) (22)	3.7 (2.7-5.0)	8.92
C. (-Tyr (n-Bu)-Har-) (23)	4.9 (3.3-7.2)	6.74
C. (-Tyr (tert-Bu)-Har-) (24)	14.7 (12.0-17.9)	2.54

a) 95%信頼限界を()内に示した。

b) cyclo (-Tyr-Arg-)を1とした時の活性比。

次に本発明を実施例でより詳細に説明するが、本発明がこれによって限定されるものではない。なお T L C の溶媒系は Rf (A) = 1-ブタノール：酢酸：水 (4 : 1 : 5, 上層), Rf (B) = 1-ブタノール：ピリジン：酢酸：水 (15 : 10 : 3 : 12) である。表 II に示したジペプチド中間体の Boc は T L C の前に 4 N 塩酸・ジオキサンで処理し脱離した。

実施例 1. 中間体 (保護アミノ酸) の合成

① Boc-Tyr(Et)-OH の合成

N^α-アセチル-Tyr-OH をジエチル硫酸と反応させ、水から再結晶し、H-Tyr(Et)-OH を得た。収率 74% , mp 224—228° (分解) ; $[\alpha]_D^{20}$ -14.4° (C = 0.8, 1 N HCl) ; Rf (A) 0.47 , Rf (B) 0.68 , 元素分析 : C₁₁, H₁₈, NO₂ ; 計算値, C, 63.14 ; H, 7.23 ; N, 6.69 . 実験値, C, 63.32 ; H, 7.31 ; N, 6.48 . H-Tyr(Et)-OH を Boc-ON と反応させ Boc-Tyr(Et)-OH とした。収率 60% ; mp 81—84° ; $[\alpha]_D^{20}$ +32.6° (C = 1.0, MeOH) { 文献値 mp 90—92° , $[\alpha]_D^{20}$ +39.8° (C

(17)

中に加え、それに水酸化カリウム末 460 ㏾を加え、40 分間反応させた。次に酢酸 0.5 ml を加え、減圧下で蒸発させ得られる残渣を EtOAc で抽出した。それを水で洗い減圧下で濃縮し得られる油状残渣をアニソール 0.5 ml を含んだ 6 N 塩酸 10 ml に溶かし、110° で 22 時間加熱した。エーテルで洗った後、減圧下で濃縮し得られた生成物を 1-ブタノール・酢酸・水 (4 : 1 : 5, 上層) の小量に溶かし、同じ溶媒で平衡させた Sephadex G-25 のカラム (2.8 × 45 cm) に通し、6.2 ml づつのフラクションを集め、フラクション № 40—60 のチューブをまとめ、減圧下で蒸発乾燥させた。この生成物を 50% エタノール 10 ml に溶かし、pH を 1 N アンモニア水で 6 にした。冷やすと無色のこまかい H-Al Tyr-OH の結晶が 200 ㏾ (収率 45%) 得られた。mp 242—244° (分解) ; $[\alpha]_D^{20}$ +62.3° (C = 0.9, 1 N 塩酸) ; Rf (A) 0.47 ; I R (キヨール法) cm^{-1} : 1645, 990, 940 ; 元素分析 : C₁₂, H₁₈, NO₂ ; 計算値, C, 65.14 ; H, 6.83 ; N, 6.33 . 実験値, C, 65.17 ; H, 7.07 ; N, 6.23 .

(19)

= 1, EtOH) } : 元素分析 : C₁₀, H₁₅, NO₂ ; 計算値, C, 62.12 ; H, 7.49 ; N, 4.53 . 実験値, C, 62.10 ; H, 7.70 ; N, 4.46 .

これと同様にして Boc-Tyr(Me)-OH を合成することができた。

② Tfa-Tyr(Bzl)-OBzl の合成

EtOAc 50 ml 中 H-Tyr(Bzl)-OBzl 3.4 g と S-エチルチオールトリフルオロアセテート 2.5 ml を混和し、室温で一夜かきまぜた。次に減圧下で溶媒をのぞき、エーテル 15 ml に溶かし、冷却し得られた沈澱物を濾取し乾燥した。エーテル・石油エーテルから再結晶すると針状無色の結晶 3.66 g (収率 85%) が得られた。mp 83—84° ; $[\alpha]_D^{20}$ -15.0° (C = 1.0, MeOH) ; 元素分析 : C₂₂, H₂₇, NO₂, F₃ ; 計算値, C, 65.64 ; H, 4.85 ; N, 3.06 . 実験値, C, 65.37 ; H, 4.89 ; N, 3.33 .

③ Boc-Al Tyr-OH の合成

上記で得られた Tfa-Tyr(Bzl)-OBzl 750 ㏾ とアリルブロマイド 0.68 ml を 5 ml のアセトン

(18)

これを Boc-ON で Boc 化し、目的の油状物を得、これをジサイクロヘキシルアミン塩とした。収率 70% ; mp 138—140° ; $[\alpha]_D^{20}$ -29.1° (C = 0.9, MeOH) ; I R (キヨール法) cm^{-1} : 1665, 975, 920 ; 元素分析 : C₁₇, H₂₁, NO₂ . C₁₂, H₁₅, N ; 計算値, C, 69.29 ; H, 9.22 ; N, 5.57 . 実験値, C, 69.34 ; H, 9.41 ; N, 5.56 .

④ Boc-Phe(NO₂)-OEt の合成

D M F 10 ml と臭化エチル 0.38 ml の混合液中にフッ化カリ末 871 ㏾を加え、次に Boc-Phe(NO₂)-OH 1.55 g を加え、これを一夜室温でかきまぜた後、水 60 ml で希釈し酢酸エチルで抽出した。抽出液を 1 N 重曹と水で洗い、硫酸マグネシウムで乾かし減圧乾燥した。生成物を酢酸エチル・n-ヘキサンから再結晶すると無色針状結晶が得られた。収量 1.4 g (83%) ; mp 61° ; $[\alpha]_D^{20}$ -20.0° (C = 1.0, MeOH) ; 脱 Boc-誘導体, Rf (A) 0.58, Rf (B) 0.85 ; 元素分析 : C₁₀, H₁₂, N₂, O₆ ; 計算値, C, 56.79 ; H, 6.55 ; N, 8.28 . 実験値, C, 56.82 ; H, 6.69 ; N, 8.30 .

(20)

⑤ Boc - Gph - OEt の合成

Boc - Phe (NO₂) - OEt 1.01g をとりメタノール 27ml および酢酸 0.2 ml に溶かし氷冷下 10%Pd/C 170 ㍉で4時間還元した。触媒を除き減圧で溶媒を除き油状物を得、水酸化カリ球で乾燥した。生成物をジイソプロピルアミン 0.8 ml を含んだ THF 7 ml に溶かし、1-アミジノ-3,5-ジメチル-ピラツォールニトレート 905 ㍉を加え、16時間還流した。減圧で溶媒を除くと油状物が得られ、それを酢酸 0.8 ml を含んだメタノール 15 ml に溶かし冷やした。生成する沈澱物を除き、溶液を減圧下で濃縮し、エーテルで結晶化した。エタノール・酢酸エチルから再結晶し、無色の細かい結晶物を 575 ㍉ (55%) 得た。mp 131 - 133° ; Rf(A) 0.66 , Rf(B) 0.84 , 坂口反応陽性でニンヒドリン陰性の単一スポット ; $(\alpha)_D^{25} - 21.1^\circ$ (C = 0.8 , MeOH) ; 元素分析, C₁₇ H₁₈ N₄ O₄ · H₂O ; 計算値, C, 55.42 ; H, 7.66 ; N, 15.21 . 実験値, C, 55.26 ; H, 7.53 ; N, 15.54 .

⑥ H - Har (HCl) - OMe · HCl の合成

(21)

元素分析, C₁₁ H₁₇ NO₄ · C₁₁ H₁₁ N ; 計算値, C, 69.46 ; H, 9.72 ; N, 5.40 . 実験値, C, 68.92 ; H, 9.90 ; N, 5.28 .

実施例 2. 鎖状ジペプチドの合成

一般的に H - Arg (HCl) - OMe や H - Har (HCl) - OMe 等は対応する Boc - アミノ酸と通常の DCC - HOBT あるいは WSCI - HONB 法で縮合させた。具体的には、反応後ジシクロヘキシル尿素をろ取して除き、ろ液に水を加え、水飽和 1 - BuOH で2回抽出した。抽出液を 1 - BuOH 飽和 1 N 酢酸, 1 - BuOH , 飽和 1 N アンモニア水および 1 - BuOH 飽和水で洗い減圧下で乾燥し油状物を得、純 1 - BuOH に溶かし、再び減圧で乾燥した。得られる残渣をエーテル中で粉碎すると固型物が得られ、本品は減圧下に P₂O₅ 上で乾燥した。生成物が油状の時、残渣は 4 N 塩酸・ジオキサランで処理しジペプチドエステル 2 塩酸とし、多くの場合、エタノール又は 2 - プロパノールから再結晶化した。

Boc - Ornⁿ (Z) - Tyr - OMe および Boc - Dab

(23)

H - Har - OH をメタノール中 SOCl₂ でエステル化され製造できメタノール・エーテルで再結晶した。収率 90% , mp 118 - 120° ; $(\alpha)_D^{25} + 34.0^\circ$ (C = 1.0 , MeOH) ; Rf(A) 0.13 , Rf(B) 0.48 ; 元素分析, C₈ H₁₀ N₄ O₄ · 2HCl ; 計算値, C, 35.16 ; H, 6.64 ; N, 20.51 . 実験値, C, 34.64 ; H, 5.57 ; N, 20.20 .

⑦ H - Tyr (n-Pr) - OH の合成

H - Tyr - OH を 10% 水酸化ナトリウム存在の DMSO 中 n-プロピルブロマイドで O-プロピル化してつくられ、水から再結晶化した。収率 48% ; mp 228 - 230° (分解) ; $(\alpha)_D^{25} - 39.0^\circ$ (C = 1.3 , 1 N HCl) ; 元素分析, C₁₂ H₁₇ NO₄ · $\frac{1}{2}$ H₂O ; 計算値, C, 62.05 ; H, 7.81 ; N, 6.03 . 実験値, C, 61.86 ; H, 7.42 ; N, 6.02 .

⑧ Boc - Tyr (n-Bu) - OH の合成

上記で得られた H - Tyr (n-Pr) - OH を Boc - ON で Boc 化して得られる油状物をジサイクロヘキシルアミン塩にした。収率 90% ; mp 113 - 115° ; $(\alpha)_D^{25} + 37.2^\circ$ (C = 1.0 , MeOH) ; 元

(22)

(Z) - Tyr - OMe の合成の時は酢酸エチルで2回抽出し、1 N 重曹水、1 N クエン酸、水でよく洗い、硫酸マグネシウムで減圧下乾燥し、その生成物を酢酸エチル・石油エーテルから再結晶化した。

これらの鎖状ジペプチドの収率および物性値を表 II に示した。

(24)

表 II 鎖状ジベプチドの収率と物性値

化合物	収率 (%)	融点 (°C)	(α) _D ^{a)}	分子式	元素分析 C H N	Rf ^{d)} (A)
Boc-Cha-Arg-OMe	68	102-107	-31.0	C ₂₁ H ₃₀ N ₄ O ₅ · CH ₃ COOH·H ₂ O ^{d)}	53.16 8.73 13.48 (53.02 8.72 13.34)	0.30
H-Leu-Arg-OMe·2HCl	77	120-122	+14.0	C ₁₈ H ₂₇ N ₃ O ₅ · 2HCl· $\frac{1}{2}$ H ₂ O	38.90 8.04 17.67 (38.69 8.48 17.08)	0.25
H-Val-Arg-OMe·2HCl	80	amorph.	-46.0	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₅ · 2HCl·H ₂ O	38.10 7.72 18.51 (38.53 7.90 17.88)	0.21
H-Ser(Bzl)-Arg-OMe· 2HCl	85	amorph.	+22.0	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₅ · 2HCl	46.58 6.67 16.12 (46.82 6.88 16.12)	0.35
Boc-Ala-Arg-OMe	53	78-83 (dec.)	-27.0 (α =0.4)	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₅ · $\frac{1}{2}$ CH ₃ COOH ^{d)}	48.10 7.87 15.58 (48.49 8.41 15.33)	0.13
Boc-5HTP-Arg-OMe	85	91-96	-27.3 (α =0.4, 1%MeOH)	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅ · $\frac{1}{2}$ HCl	54.29 6.84 16.52 (53.93 7.21 16.04)	0.29
H-Tyr(Me)-Arg-OMe· 2HCl	78	84-88	+11.0	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₅ · 2HCl·H ₂ O	44.74 6.85 15.34 (44.93 7.24 15.27)	0.26
Boc-Tyr(Et)-Arg-OMe	58	74-77	+18.0	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅ · CH ₃ COOH ^{d)}	55.64 7.66 12.98 (56.03 8.17 12.56)	0.29
Boc-Tyr(3,5-diBr)- Arg-OMe	75	188-190 (dec.)	+29.0 (α =2.0)	C ₂₁ H ₂₉ N ₃ O ₅ Br ₂ · $\frac{1}{2}$ HCl	40.19 5.06 11.16 (40.61 5.20 10.85)	0.33
H-Trp(CHO)-Arg-OMe· 2HCl	89	117-121	+17.0	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₅ · 2HCl·H ₂ O	46.25 6.13 17.03 (46.62 6.44 16.67)	0.25
Boc-MeTyr(Bzl)-Arg- OMe·HCl	91	87-91	-37.6	C ₂₂ H ₃₁ N ₃ O ₅ · HCl	58.82 7.15 11.83 (59.22 7.50 11.87)	0.31
Boc-AlTyr-Arg-OMe· HCl	82	94-100 (α =0.7)	-44.0 (α =0.7)	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅ · HCl·2H ₂ O	51.10 7.51 12.42 (50.84 7.41 12.90)	0.37
H-Tyr(Bzl)-Har-OMe· 2HCl	62	192-195	+15.0	C ₂₄ H ₃₁ N ₃ O ₅ · 2HCl	54.53 6.68 13.25 (54.82 6.83 13.17)	0.36
H-Tyr(Bzl)-Gph-OEt· 2HCl	51	180-182	+24.0	C ₂₁ H ₂₉ N ₃ O ₅ · 2HCl·H ₂ O	56.56 6.27 11.78 (56.98 6.25 11.31)	0.52
Boc-Orn(Z)-Tyr-OBzl	89	95-96	-27.0	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅ · H ₂ O	65.79 6.82 6.77 (66.08 7.00 6.71)	0.73
Boc-Dab(Z)-Tyr-OBzl	72	53-56	-33.0 (DMF)	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅	65.44 6.49 6.94 (65.85 6.53 6.70)	0.78
H-5HTP-Har-OMe·2Tos	43	132-134	+42.4 (α =0.4)	C ₃₀ H ₃₇ N ₃ O ₅ · 2C ₁₀ H ₈ O ₂ S $\frac{1}{2}$ H ₂ O	52.30 5.98 11.09 (52.22 6.46 10.53)	0.24
H-Tyr(Et)-Har-OMe· 2HCl	75	197-199	+19.0	C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₅ · 2HCl· $\frac{1}{2}$ H ₂ O	48.09 7.01 14.76 (48.33 7.28 14.74)	0.31
H-Trp(CHO)-Har-OMe· 2HCl	70	170-174 (dec.)	+5.0	C ₂₆ H ₃₁ N ₃ O ₅ · 2HCl	49.07 6.18 17.17 (48.60 6.14 17.24)	0.27
H-Tyr(η -Pr)-Har-OMe· 2HCl	76	192-195 (dec.)	+12.0	C ₂₆ H ₃₁ N ₃ O ₅ · 2HCl· $\frac{1}{2}$ H ₂ O	49.46 7.41 14.30 (49.25 7.40 14.14)	0.32

(25)

「表 II (続き)」

化合物	収率 (%)	融点 (°C)	(α) _D ^{a)}	分子式	元素分析 C H N	Rf ^{d)} (A)
H-Tyr(iso-Pr)- Har-OMe·2HCl	65	180-184 (dec.)	+18.0	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₅ · 2HCl· $\frac{1}{2}$ H ₂ O	49.07 7.41 14.31 (49.36 7.69 14.07)	0.32
H-Tyr(η -Pr)-Har-OMe· 2HCl	67	200-203 (dec.)	+20.0	C ₂₁ H ₃₁ N ₃ O ₅ · 2HCl	51.00 7.54 14.16 (50.96 7.64 13.86)	0.35
Z-Tyr(tert-Bu)- Har-OMe	78	110-114	+26.0	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₅ · H ₂ O	60.71 7.56 12.21 (59.85 7.16 11.78)	0.77

a) 特に記載のないものは MeOH (c-1) 中 20-23 °C で測定した。

b) 実験値は () 内に示した。

c) T L C における Rf 値を示し、溶媒 (A) は前述のものを用いた。

d) この化合物は溶出に水を使った Dowex 1 × 2 (アセテート型) および溶出に 50 % エタノールを使ったカラムクロマトグラフィーで精製した。

実施例 3. 環状ジペプチド類 (ジクトビペラジン) の合成

上記鎖状ジペプチドの環状化にあたって、例えば Boc 基は 4 N 塩酸・ジオキサンで処理して除いた。ただし Trp, 5 HTP を含んだジペプチドの場合は 2 M P-トリエンスルホン酸の、5 % アニソール含有ジオキサン中で処理して除いた。一般に、ジペプチドエステル体の環状化は先に記した酢酸触媒法で行った。すなわち、反応後に反応溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を少量の水に溶かし、Dowex 1 × 2 resin (アセテート型) のカラムを通し、水で溶出し、溶出液を集め凍結乾燥した。保護基に Bzl 又は Z を持っているジクトビペラジンの場合は、生成物をメタノール・水 (1 : 1) 中 10 % Pd/c で還元し、同様に Dowex 1 × 2 樹脂

で処理した。この生成物を 0.1 M ビリジン・アセテート緩衝液 (pH 5.20) 300 ml と水 300 ml で流しておいた CM-Sephadex カラムに通した。溶出液は UV 吸収測定又は Cl-O-トリイジン試薬でモニターした。目的とする化合物を含んだ主

(27)

を水 5 ml に溶かし、湿重量約 2 g の Dowex 1 × 2 (アセテート型) で処理した。溶出液を濃縮した後、前述の方法で溶出しておいた CM-Sephadex のカラム (2 × 10 cm) を使った。フラクションは各 5.5 ml とし、フラクション No 46 - 52 を集め減圧蒸発、凍結乾燥し、無色綿毛状物 36 mg を得た。

② Cyclo(-Tyr-Arg (DHCH)-) (17) の合成

0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 5 ml と 1,2-サイクロヘキサンジオン 20 mg と cyclo(-Tyr-Arg (HCl)-) 56 mg を混ぜ、N₂ ガス下、室温で 50 時間かき混ぜた後、5 N 塩酸を 2 ~ 3 滴加えた。得られた液を減圧蒸発し、残渣を 1 N 酢酸を流した Sephadex G-10 のカラム (2.5 × 95 cm) で処理した。フラクションは各 5.5 ml とし、フラクション No 70 - 82 を集め凍結乾燥した。上記したように、生成物を Dowex 1 × 2 (アセテート型) で処理し、次に CM-cellulose カラム (2 × 13 cm) を使用した。カラムは 0.1 M ビリジン・アセテート緩衝液 (pH 5.00) 300 ml と水 300 ml で流して、各フラクション 6.3 ml とし、フラクション No

(29)

要フラクションを集め凍結乾燥した。不純物が TLC でみられた時は Boc-AlTyr-OH の合成の時に記した様に、Sephadex G-25 のカラムクロマトグラフィーでさらに精製した。以下にその具体例を記す。

① Cyclo(-Tyr-Gbu-) (14) の合成

0.1 M 重曹・炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.5) 10 ml に cyclo(-Tyr-Dab-) を溶かし、1-アミノ-3,5-ジメチルピラゾールニトレート 1 g の 2 N 水酸化ナトリウム 5 ml 溶液の冷却液と混ぜ 5 °C で 60 時間かき混ぜた。反応中の pH は 1 N 水酸化ナトリウムで 9.5 - 9.8 に保った。次に 5 N 塩酸の数滴を加え、濃縮後、1 % 酢酸を流した Sephadex G-10 のカラム (2.5 × 80 cm) を使って精製した。フラクションは各 6.5 ml とし、フラクション No 55 - 65 を集め凍結乾燥した。生成物を Boc-AlTyr-OH の合成の時に記したように Sephadex G-25 のカラムクロマトグラフィーに付した。フラクションは各 5.6 ml とし、フラクション No 65 - 96 を集め、凍結乾燥した。本品

(28)

25 - 39 を集め、減圧蒸発し、水から凍結乾燥すると無色綿状物 47 mg を得た。電気泳動、E/C. (-Tyr-Arg-) 0.76。この化合物は室温で貯蔵中 solid 状にゆっくりと分解した。

上記化合物 (14), (17) およびその他の環状ジペプチド類 (ジクトビペラジン) の収率および物性値は表 III に示した。

表 III 環状ジベブテラド類の収率と物性値

環状 ジベブテラド 番号	収率 (%)	融点 (°C)	(α) _D ^{a)}	分子式	元素分析 ^{b)}			Rf ^{c)}	
					C	H	N	(A)	(B)
(1)	74	179-184	-40.9 (ε-0.2)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ½CH ₃ COOH·½H ₂ O	50.68 (50.50)	8.51 8.60	16.42 16.27	0.51	0.86
(2)	88	170-177 (dec.)	-29.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ½CH ₃ COOH·½H ₂ O	47.79 (47.91)	8.56 8.83	20.52 20.78	0.39	0.83
(3)	77	176-178	-56.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ¾CH ₃ COOH	49.07 (48.80)	7.93 8.08	21.20 21.29	0.38	0.83
(4)	32	107-110	-87.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ½CH ₃ COOH·H ₂ O	41.10 (40.97)	7.17 7.39	19.93 20.26	0.14	0.50
(5)	30	114-120	-18.2	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ½CH ₃ COOH·H ₂ O	44.16 (44.10)	7.43 7.82	21.45 21.46	0.24	0.56
(6)	47	170-175	+62.5 (ε-0.5)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·2H ₂ O	50.21 (50.25)	6.65 6.68	18.49 18.77	0.32	0.54
(7)	84	131-134	+15.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ¾CH ₃ COOH·½H ₂ O	51.17 (51.11)	7.12 7.28	15.70 15.68	0.37	0.68
(8)	48	136-138	+40.0 (ε-0.5)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·½H ₂ O	54.79 (54.74)	7.28 7.42	16.80 16.68	0.38	0.73
(9)	69	212-216	+33.0 (ε-0.7)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ Br ₂ · CH ₃ COOH·H ₂ O	36.77 (36.73)	4.54 4.45	12.61 12.50	0.46	0.68
(10)	66	121-123	-30.0 (ε-0.8)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ¾CH ₃ COOH	52.22 (52.45)	6.20 6.67	17.82 17.68	0.31	0.65
(11)	88	88-91	-25.0 (ε-0.4)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ¾CH ₃ COOH·H ₂ O	53.83 (54.30)	7.32 7.57	14.95 14.55	0.39	0.76
(12)	78	182-187	+52.6 (ε-0.4)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·H ₂ O	52.54 (52.02)	7.10 6.82	17.02 16.62	0.35	0.73
(13)	65	178-181	-116.4 (ε-0.7)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · ¾CH ₃ COOH·½H ₂ O	55.49 (55.45)	6.21 6.20	15.41 15.35	0.48	0.76
(14)	51	279-286 (dec.)	+26.7 (ε-0.5)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·2H ₂ O	47.87 (47.88)	6.78 6.21	17.45 17.45	0.36	0.70
(15)	72	215-220 (dec.)	+62.5 (ε-0.4)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·2H ₂ O	51.46 (51.68)	7.29 6.86	11.25 11.60	0.27	0.72
(16)	89	203-205	+66.0 (ε-0.3)	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH	52.77 (52.94)	6.79 6.75	12.31 12.31	0.28	0.71
(17)	64	160-170 (dec.)	+75.8 (ε-0.31) AcOH	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH	56.08 (55.73)	6.96 6.75	14.22 13.72	0.45	0.78
(18)	20	166-168	+12.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·H ₂ O	53.32 (53.72)	6.71 6.82	18.65 18.36	0.34	0.68
(19)	44	240-245 (dec.)	+18.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·H ₂ O	54.65 (54.64)	7.57 7.76	15.94 15.85	0.38	0.75
(20)	78	129-132	-8.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·H ₂ O	54.53 (54.51)	6.54 6.56	18.17 18.16	0.35	0.71

特開昭59-73574 (10)

(31)

「表III(続き)」

環状 ジベブテラド 番号	収率 (%)	融点 (°C)	(α) _D ^{a)}	分子式	元素分析 ^{b)}			Rf ^{c)}	
					C	H	N	(A)	(B)
(21)	53	161-163	+23.4	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·½H ₂ O	54.53 (54.66)	7.85 8.01	15.14 15.08	0.39	0.75
(22)	70	158-160	+26.0	C ₁₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·2H ₂ O	53.49 (53.16)	7.91 7.60	14.85 14.93	0.38	0.74
(23)	40	155-157	+25.0	C ₁₀ H ₁₅ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·½H ₂ O	55.44 (55.27)	8.04 7.71	14.70 14.60	0.42	0.73
(24)	38	129-132	+20.5 (ε-0.5)	C ₁₀ H ₁₅ N ₃ O ₄ · CH ₃ COOH·½H ₂ O	55.44 (55.76)	8.04 8.35	14.70 14.46	0.40	0.75

a) 特に記載のないものはMeOH (c-1) 中 20 ~ 23 °C で測定した。

b) 実験値は () 内に示した。

c) T L C における Rf 値を示し、溶媒(A)および(B)は前述のものをを用いた。

d) 化合物番号は表 I における化合物に対応する。